

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

©Коллектив авторов

КОРРЕКЦИЯ УРОВНЯ СЫВОРОТОЧНЫХ ПРООНКОГЕННЫХ ЦИТОКИНОВ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ПРОИЗВОДНЫМИ 5-ОКСИПИРИМИДИНА И ДОКСОРУБИЦИНОМ ПОСЛЕ УДАЛЕНИЯ ПЕРВИЧНОГО ОПУХОЛЕВОГО УЗЛА У МЫШЕЙ С МЕТАСТАЗИРУЮЩИМ РАКОМ ЛЁГКОГО LLC

Л.П. Коваленко, К.В. Коржова, С.В. Никитин, Е.А. Иванова, Р.В. Журиков*

НИИ фармакологии имени В.В. Закусова,
125315, Москва, Балтийская ул., 8; *эл. почта: zhurikovrv@gmail.com

Изучено влияние на метастазирование, продолжительность жизни и концентрацию цитокинов в сыворотках крови мышей после удаления первичного опухолевого узла карциномы лёгкого Lewis (LLC), однократного введения мышам линии C57BL/6 доксорубицина, 8-дневного введения производных 5-оксипиримидина СНК-411 (2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин) и СНК-578 (хлоргидрат 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина), отдельно, а также в сочетании с однократным введением доксорубицина. Клетки LLC в концентрации 1×10^6 вводили в подушечку правой задней стопы животным контрольных и опытных групп, по истечении 14 дней лапки с опухолью ампутировали по голеностопному суставу. За 1 ч до ампутации лапки с первичным опухолевым узлом однократно вводили доксорубицин в дозе 4 мг/кг и начинали 8-дневную монотерапию СНК-578 в дозе 10 мг/кг внутривенно (в/в), СНК-411 в дозе 25 мг/кг перорально и в сочетании с однократным в/в введением доксорубицина в дозе 4 мг/кг. При введении СНК-411 и СНК-578 индекс ингибирования метастазирования составил по 53,3% по сравнению с контролем с удалённой опухолью. В группе животных, которым вводили СНК-411, отмечено увеличение продолжительности жизни на 60,2%, доксорубицин — на 53,9%, СНК-578 с доксорубицином — на 42,9%. Однократное введение доксорубицина, 8-дневное введение производных 5-оксипиримидина в сочетании с однократным введением доксорубицина полностью снижало содержание проонкогенных Th2 цитокинов IL-4 и IL-6 в образцах сыворотки крови животных опытных групп и значимо уменьшало содержание Th2 цитокина IL-5. Введение доксорубицина, СНК-411 или СНК-578 не снижало концентрацию Th1 цитокина IFN- γ , что подтверждает ранее полученные нами данные об уменьшении концентрации Th2 цитокинов IL-4 и IL-6 у мышей с LLC, и об отсутствии негативного влияния на Th1 цитокин IFN- γ в группах животных, получавших исследуемые соединения.

Ключевые слова: модель рака лёгкого *in vivo*; доксорубицин; пиримидины; метастазирование; интерлейкины; выживаемость

DOI: 10.18097/PBMC20236901039

ВВЕДЕНИЕ

При противоопухолевой терапии доксорубицином повышается образование свободных радикалов, что приводит к повреждению нуклеиновых кислот и внутриклеточных белково-липидных структур и является одним из механизмов кардиотоксического действия антрациклиновых антибиотиков, вызывающих кардиомиопатию. Согласно данным литературы, совместное применение доксорубицина с препаратами, обладающими антиоксидантным и противовоспалительным действием, усиливает антиметастатическую активность и уменьшает побочное действие антрациклиновых антибиотиков. В частности, при двукратном введении доксорубицина в дозе 4 мг/кг на 7 день после перевивки 1×10^6 клеток карциномы лёгкого Lewis (LLC) внутримышечно в бедро мышам линии C57BL/6 торможение роста опухоли (ТРО) на 22 день опыта составило 33,5%, а при введении доксорубицина совместно с 14-дневным введением мексидола в дозе 50 мг/кг — 30,1%. Индекс ингибирования метастазирования (ИИМ) при введении доксорубицина был меньше (21,3%), чем при совместном введении

доксорубицина и мексидола (33,5%). Таким образом, сочетанное введение мексидола с доксорубицином не снижало ТРО, но ограничивало процесс спонтанного метастазирования [1], то есть при сочетанном применении доксорубицина и мексидола показатели противоопухолевой и антиметастатической активности препаратов превышали аналогичные показатели при их раздельном введении животным [2].

В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова в отделе химии были разработаны и синтезированы малотоксичные производные 5-оксипиримидина СНК-411 (2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин) и хорошо растворимый в воде СНК-578 (хлоргидрат 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина) [3, 4].

При подкожной перевивке 5×10^6 опухолевых клеток на модели карциномы лёгкого Lewis (LLC) и меланомы В-16 с формированием первичного опухолевого узла у мышей линии C57BL/6 СНК-411 и СНК-578 проявляли противоопухолевую и антиметастатическую активность. На модели LLC в лёгких на 21 сутки после инокуляции опухоли было установлено, что ИИМ при 14-дневном внутривенном (в/в) введении СНК-411

со 2 по 15 день развития опухоли в дозе 50 мг/кг составил 61,4% [5]. На модели меланомы B-16 СНК-578 обладал выраженной антиметастатической активностью в дозах 10 мг/кг и 25 мг/кг при 14-дневной (в/бр) монотерапии (ИИМ — 75,8-92,3%). При их курсовом применении совместно с однократным введением доксорубина в дозе 4 мг/кг на 2 день развития опухоли этот эффект усиливался (ИИМ — 98,9%) [6]. При изучении противовоспалительных свойств СНК-411 и СНК-578 на моделях реакции воспаления на конканавалин А и отёка на каррагинан было показано, что производные 5-оксипиримидина обладают выраженной противовоспалительной активностью, сопоставимой с диклофенаком [7].

СНК-411 при введении со 2 по 8 и с 8 по 15 дни развития LLC в дозе 25 мг/кг уменьшал содержание провоспалительного интерлейкина 6 (IL-6) и плейотропного IL-4 [8], которые, согласно данным литературы, через сигнальные пути STAT3 и STAT6 стимулируют опухолеобразование и метастазирование многих видов рака [9, 10].

Однако для характеристики антиметастатической активности изучаемых соединений необходимы данные о достоверном ингибировании развития метастазов на фоне удаления первичного опухолевого узла, после удаления которого возможно усиление метастазирования.

Целью данной работы была оценка влияния однократного введения доксорубина на 14 день опыта, 8-дневного введения соединений СНК-411 и СНК-578 и их комбинаций с однократным введением доксорубина у мышей линии C57BL/6 с LLC на метастазирование и уровень цитокинов после удаления первичного опухолевого узла.

МЕТОДИКА

Работа выполнена на 120 мышах-самцах линии C57BL/6 массой 18-20 г (8 животных — интактный контроль, по 16 животных-опухоленосителей в каждой группе), полученных из питомника “Столбовая”. Животных содержали в виварии НИИ фармакологии имени В.В. Закусова при 12-часовом световом режиме на стандартном сбалансированном брикетированном корме со свободным доступом к пище и воде при естественном освещении и температуре воздуха 20-21°C.

В качестве экспериментальной модели злокачественного роста была использована модель LLC, штаммы опухолевых клеток получены из банка клеточных культур НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей научного медицинского исследовательского центра онкологии имени Н.Н. Блохина. Штамм опухолевых клеток LLC имплантировали самцам мышей линии C57BL/6 в подушечку правой стопы в максимальной для данного введения дозе, которая составила 1×10^6 опухолевых клеток LLC. День перевивки клеток опухолевого штамма считали нулевым днём развития первичной опухоли. На 14 день после перевивки LLC за 1 ч до удаления лапки с первичным опухолевым узлом однократно вводили доксорубин

в дозе 4 мг/кг и начинали курсовое введение производных 5-оксипиримидина в течение 8 дней. После в/бр введения тиопентала натрия в дозе 25 мг/кг лапки с опухолью ампутировали по голеностопному суставу при наложении перетягивающего жгута, операционную рану обрабатывали медицинским клеем во всех группах (кроме группы интактного контроля №1 и контрольной группы №2 с неудалённой опухолью). Животных распределяли в следующие группы:

- 1) интактный контроль (контроль №1);
- 2) группа контроля с первичным опухолевым узлом LLC/1% раствор крахмала (контроль №2);
- 3) группа контроля с удалённым первичным опухолевым узлом LLC/1% раствор крахмала (контроль №3);
- 4) LLC/однократное в/бр введение доксорубина в дозе 4 мг/кг;
- 5) LLC/СНК-578 в течение 8 дней в/бр в дозе 10 мг/кг;
- 6) LLC/СНК-411 в течение 8 дней перорально в дозе 25 мг/кг;
- 7) LLC/СНК-578 в течение 8 дней в/бр в дозе 10 мг/кг + доксорубин однократно в/бр в дозе 4 мг/кг;
- 8) LLC/СНК-411 в течение 8 дней перорально в дозе 25 мг/кг + доксорубин однократно в/бр в дозе 4 мг/кг.

На следующий день после курсового введения исследуемых соединений у животных интактного контроля и половины животных остальных групп забор крови осуществляли методом декапитации с помощью гильотины (НПК “Открытая наука”, Россия), собирали кровь, в лёгких подсчитывали количество метастазов, используя лупу Magnifier Lamp 8608 E-D XB (“Zhengte”, Китай). Сыворотку крови получали центрифугированием при 2500 об/мин в течение 30 мин на центрифуге Eppendorf Centrifuge 5804 R (“Eppendorf”, Германия). Эффективность лечебного воздействия определяли с помощью показателей: частота метастазирования (%); среднее количество метастазов в группе; величина различия в метастазировании опухоли между контрольной и опытной группами по индексу ингибирования метастазирования, %:
$$\text{ИИМ} = [(A_k \times B_k) - (A \times B)] / (A_k \times B_k) \times 100\%$$
 где A_k и A — частота метастазирования в лёгких у мышей контрольной группы и опытной; B_k и B — среднее число метастазов в лёгких на одно животное в контрольной и опытной группах.

Влияние 8-дневного введения производных 5-оксипиримидина и однократного введения доксорубина на концентрацию цитокинов IL-1 α , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17, IFN- γ , GM-CSF, TNF- α в сыворотке крови мышей с LLC изучали на проточном цитометре BD FACSCanto II (“BD Biosciences”, США) методом мультиплексного определения флуоресцентных частиц Mouse Th1/Th2 10plex Kit, (“eBioscience”, Австрия) согласно протоколу производителя. Результаты обрабатывали в программе FlowCytoMix Pro 2.2.1 и выражали в пг/мл.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программы Statistica 10. Все регистрируемые характеристики животных представлены в таблице в виде среднего и стандартной ошибки среднего ($\text{Mean} \pm \text{SEM}$). Проверку на нормальность распределения проводили с применением критерия Шапиро-Уилка. Для проверки гипотезы об однородности групп исследования с нормальным распределением в исследуемой популяции проводили тестирование отсутствия различий между группами при помощи t-критерия Стьюдента. В случае не Гауссовского распределения для сравнения показателей использовали непараметрический критерий Манна-Уитни.

Оценку гомогенности дисперсий проводили по Левену. Значимость влияния факторов при гомогенной дисперсии определяли с помощью дисперсионного анализа ANOVA с последующей обработкой методом множественных сравнений по Даннетту.

Анализ выживаемости проводили с использованием процедуры Каплана-Мейера, для оценки достоверности различий между кривыми выживаемости использовался F-критерий Кокса.

Результаты считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Введение 1×10^6 клеток опухолевого штамма LLC в подушечку стопы вызывало на 14 день опыта максимальное увеличение её объёма, который в среднем был равен 280-320 мм³, затем увеличивался объём скакательного сустава.

На 22 день опыта после перевивания животным штамма LLC, удаления первичного опухолевого узла на 14 день опыта и затем 8-дневной в/бр монотерапии СНК-578 в дозе 10 мг/кг и СНК-411 в дозе 25 мг/кг перорально среднее количество метастазов в опытных группах было значимо ниже по сравнению с контрольной группой с неудаляемой (контроль №2, ИИМ — 50,9%) и с удалённой опухолью (контроль №3, ИИМ — 53,3%). При курсовом введении СНК-578 в дозе 10 мг/кг в сочетании с однократным введением доксорубина в дозе 4 мг/кг среднее количество метастазов в группе было значимо ниже по сравнению

с контролем №2. Однократное в/бр введение доксорубина в дозе 4 мг/кг на 14 день развития опухоли, а также совместно с пероральным введением СНК-411 в дозе 25 мг/кг не приводило к значимым изменениям среднего количества метастазов в этих группах (таблица) в отличие от полученных ранее данных при введении доксорубина на 2 день развития LLC и меланомы В-16 и усилении антиметастатического действия при его совместном в/бр введении с СНК-411 и СНК-578 [5, 6].

Медиана выживаемости по методу Каплана-Мейера в контрольных группах №2 и №3 и составляла 15 дней, при введении СНК-411 — 33 дня, доксорубина — 32 дня, СНК-578 и доксорубина — 30 дней, СНК-411 и доксорубина — 18 дней (рис. 1). В группе животных, которым вводили СНК-411, отмечено увеличение продолжительности жизни (УПЖ) на 60,2%, доксорубина — на 53,9%, СНК-578 с доксорубином — на 42,9%.

Концентрации плеiotропного Th2 цитокина IL-4 и Th1 цитокина IFN- γ были определены во всех трёх контрольных группах, IFN- γ был определён во всех контрольных и опытных группах (рис. 2).

Провоспалительный и проонкогенный Th2 цитокин IL-6 был обнаружен в образцах сыворотки крови группы контроля №2 и в более высокой концентрации в группе контроля №3; Th2 цитокины IL-4 и IL-5 были также определены и в группе контроля №1. Во всех опытных группах концентрации IL-4 и IL-6 цитокинов в образцах сыворотки крови были ниже определяемого минимального порогового значения, что свидетельствует о выраженном подавлении проонкогенных Th2 цитокинов доксорубином и производными 5-оксипиримидина.

Значительные концентрации Th2 цитокина IL-5 были обнаружены в сыворотке крови животных всех трёх контрольных групп, в опытных группах при введении доксорубина и СНК-578 в комбинации с доксорубином концентрация IL-5 была значимо меньше контроля №3. Концентрация IL-5 в сыворотке крови животных в остальных опытных группах была ниже определяемого минимального порогового значения, что свидетельствует о выраженном подавлении производными 5-оксипиримидина гемопоэтического Th2 цитокина IL-5, стимулирующего ассоциированную с опухолью эозинофилию [11-13].

Таблица. Оценка антиметастатических свойств соединений на модели перевиваемой эпидермоидной карциномы лёгкого Lewis

Группы; n=8	Контроль №2	Контроль №3	СНК-411, 25 мг/кг перорально	СНК-578, 10 мг/кг в/бр	Доксорубин, 4 мг/кг в/бр однократно	СНК-411, 25 мг/кг + Докс., 4 мг/кг	СНК-578, 10 мг/кг + Докс., 4 мг/кг
Частота метастазирования, %	100	100	100	100	100	100	100
Среднее количество метастазов на 1 мыш	11,4 \pm 2,3	12,0 \pm 2,1	5,6 \pm 0,8*#	5,6 \pm 1,1*#	12,7 \pm 2,8	9,0 \pm 1,7	5,7 \pm 1,0#
ИИМ, % по сравнению с контролем №2	—	—	50,90%	50,90%	—	21,00%	50,00%
ИИМ, % по сравнению с контролем №3	—	—	53,30%	53,30%	—	25,00%	52,50%

Примечание: * — $p < 0,05$ по сравнению с контролем №3 по критерию Манна-Уитни; # — $p < 0,05$ по сравнению с контролем №2 по критерию Манна-Уитни; n — количество животных в группе.

ВЛИЯНИЕ ДОКСОРУБИЦИНА И СНК НА ЦИТОКИНЫ ПОСЛЕ УДАЛЕНИЯ LLC

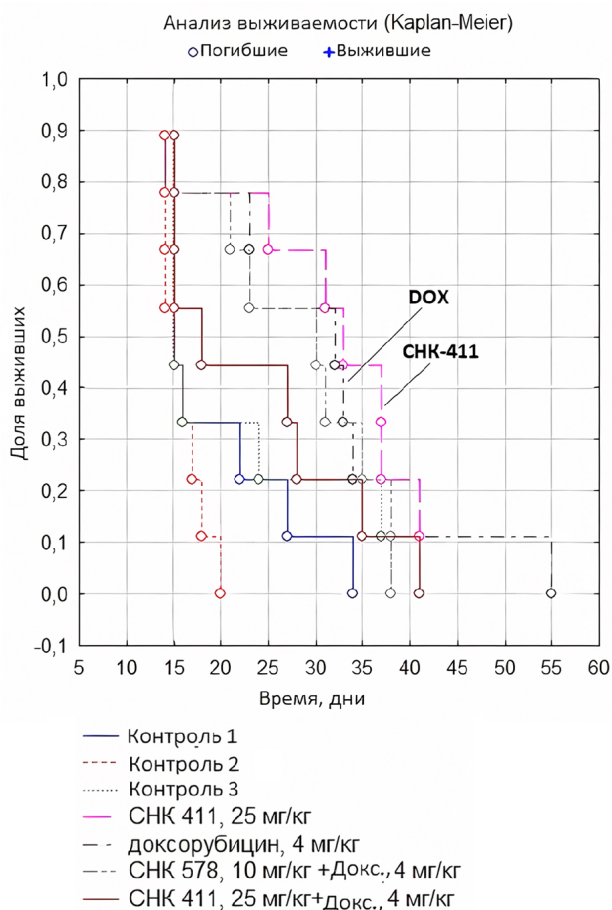


Рисунок 1. Оценка выживаемости мышей на фоне удаления первичного опухолевого узла LLC по Каплану-Мейеру, F-критерий Кокса.

Остальные цитокины IL-1 α , IL-2, IL-10, IL-17, GM-CSF, TNF- α были обнаружены в минимальных единичных значениях в образцах сыворотки крови в каждой из групп, статистически значимых результатов получено не было.

Введение СНК-411, СНК-578 и доксорубина не влияло на концентрацию Th1 цитокина IFN- γ . Это согласуется с ранее полученными данными о подавлении выработки Th2 цитокинов IL-6, IL-10, а также IL-17A и об отсутствии негативного влияния производных 5-оксипиридина на IFN- γ , обладающего противовирусными и противоопухолевыми свойствами, в группах животных с опухолью РШМ-5, получавших исследуемые соединения [14].

В наших опытах введение СНК-411 и СНК-578 морским свинкам альбиносам подавляло реакцию системной анафилаксии на овальбумин [7]. Аллергия и аутоиммунные заболевания связаны с патологически избыточным Th2- и Th17-опосредованным иммунным ответом, хронические инфекции и онкологические заболевания сопровождаются недостаточным Th1-опосредованным типом иммунного ответа. В связи с этим необходимость в лекарственных средствах, подавляющих избыточную активность Th2 проонкогенного и проаллергенного иммунного ответа, требует поиска соединений, направленных на коррекцию баланса Th1/Th2 хелперных лимфоцитов и цитокинов [15-18]. Согласно последним данным литературы, активно дискутируется вопрос о том, что противоопухолевая терапия анти-PD-1/PD-L1 моноклональными антителами для одних пациентов оказывается эффективной, у других в редких случаях ускоряет развитие опухоли. При Th1-опосредованном типе иммунновоспалительной реакции у больных

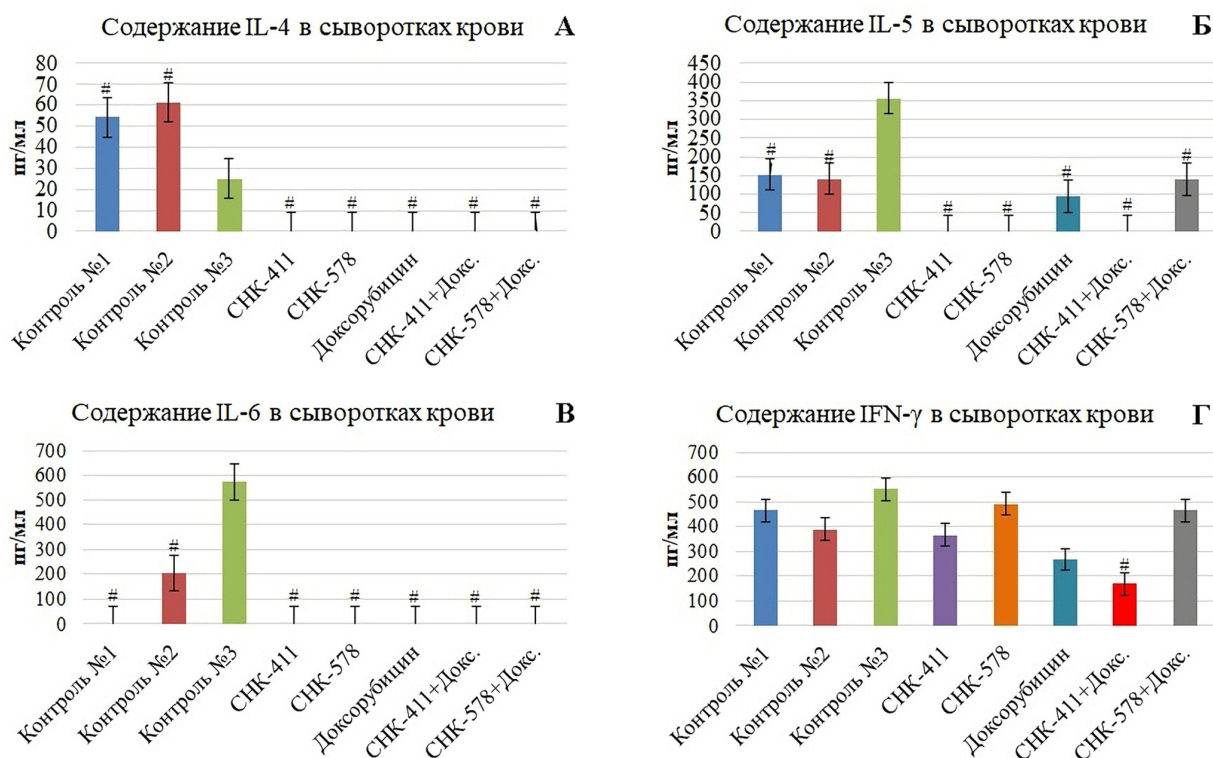


Рисунок 2. Содержание цитокинов: А) IL-4, Б) IL-5, В) IL-6, Г) IFN- γ в сыворотках крови мышей с опухолью LLC на фоне удаления первичного опухолевого узла. # – по сравнению с контролем 3 по тесту Даннетта.

раком прогноз лечения ингибиторами контрольных точек наиболее благоприятный, в то время как при Th2-опосредованном типе иммуновоспалительной реакции с определенным набором Th2 цитокинов в микроокружении опухоли можно ожидать отсутствие эффекта или даже гиперпрогрессию заболевания [19-25].

Таким образом, доксорубин и производные 5-оксипиримидина подавляли уровень проонкогенных Th2 цитокинов IL-4, IL-5 и IL-6 в сыворотке крови, не снижая уровень Th1 цитокина IFN- γ , и увеличивали выживаемость. Полученные в данной работе результаты подтверждают наличие антиметастатической активности у СНК-411 и СНК-578 на модели LLC после удаления первичного опухолевого узла.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Важнейшие компоненты воспаления, сигнальные пути, цитокины, опухоль-ассоциированные макрофаги (TAM, tumor associated macrophages), связанные с раком, участвуют в скоординированной системе, влияющей на развитие опухоли, исследование которой может пролить свет на разработку новых потенциальных противоопухолевых методов лечения [26].

На фоне удаления первичного опухолевого узла LLC было подтверждено выраженное подавление проонкогенных Th2 цитокинов производными 5-оксипиримидина и доксорубином без изменения уровня Th1 цитокина IFN- γ . Антиметастатическое действие соединений СНК-411 и СНК-578, положительное влияние СНК-411, доксорубина и совместного в/бр введения СНК-578 с доксорубином на выживаемость указывают на перспективность дальнейшего изучения противоопухолевых свойств производных 5-оксипиримидина. Можно предположить усиление противоопухолевого действия при совместном применении СНК-411 и СНК-578 с цитостатиками и высокомолекулярными таргетными противоопухолевыми препаратами, вызывающими гиперсенситизацию, что требует дальнейших исследований.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках госзадания по теме № 0521-2019-0004.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все эксперименты с животными проводили в соответствии с международными правилами (Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях) и правилами работы с животными, утверждёнными этической комиссией НИИ фармакологии имени В.В. Закусова.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Миннигалева С.Д., Магдеев Р.Р., Микуляк Н.И., Соломанина О.О. (2014) Оценка терапевтической эффективности совместного применения некоторых антрациклиновых антибиотиков и антиоксидантов. Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки, **2**(30), 23-33. [Minnigaleeva S.D., Magdeev R.R., Mikulyak N.I., Solomanina O.O. (2014) Assessment of therapeutic efficacy of joint use of some anthracycline antibiotics and antioxidants. University proceedings. Volga region. Medical sciences, **2**(30), 23-33.]
2. Микуляк Н.И., Кендзерская Ю.А., Соломанина О.О., Ионичева Л.В. (2007) Изучение противоопухолевого и антиметастатического эффектов противоопухолевых антибиотиков при раздельном и совместном применении с мексидолом. Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки, **3**(3), 10-17. [Mikulyak N.I., Kendzerskaya Yu.A., Solomanina O.O., Ionicheva L.V. (2007) Study of antitumor and antimetastatic effects of anticancer antibiotics in combination with mexidol. University proceedings. Volga region. Medical sciences, **3**(3), 10-17.]
3. Середенин С.Б., Никитин С.В., Коваленко Л.П., Дурнев А.Д. (2014) Производное 5-оксипиримидина, обладающее противоопухолевой активностью. Патент № RU 2518889 от 10.06.2014 г., Москва, Федеральная служба по интеллектуальной собственности. [Seredenin S.B., Nikitin S.V., Kovalenko L.P., Durnev A.D. (2014) 5-hydroxypyrimidine derivative with antitumor activity. Patent No. RU 2518889 of 10.06.2014. Moscow, Federal Service for Intellectual Property.]
4. Коваленко Л.П., Никитин С.В., Дурнев А.Д., Гудашева Т.А. (2019) Средство с противоопухолевой и антиметастатической активностью, противовоспалительным и противоаллергенным действием Патент № RU 2686672 от 20.07.2018 г., Москва, Федеральный институт промышленной собственности. [Kovalenko L.P., Nikitin S.V., Durnev A.D., Gudashева T.A. (2019) Medication with antitumor, antimetastatic, anti-inflammatory and antiallergic actions. Patent No. RU 2686672 of 20.07.2018. Moscow, Federal Service for Intellectual Property.]
5. Коваленко Л.П., Никитин С.В., Сорокина А.В., Мирошкина И.А., Иванова Е.А., Кузнецова О.С., Коржова К.В., Дурнев А.Д. (2020) Влияние 2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидина на рост и метастазирование карциномы лёгкого Lewis у мышей линии C57Bl/6. Экспериментальная и клиническая фармакология, **83**(6), 24-27. [Kovalenko L.P., Nikitin S.V., Sorokina A.V., Miroshkina I.A., Ivanova E.A., Korzhova K.V., Durnev A.D. (2020) Effect of 2-isobutyl-4,6-dimethyl-5-oxypyrimidine on growth and metastasis of Lewis lung carcinoma in C57Bl/6 mice. Experimental and Clinical Pharmacology, **83**(6), 24-27.] DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-1-24-27
6. Nikitin S.V., Rebeko A.G., Zhurikov R.V., Ivanova E.A., Durnev A.D. (2019) Synthesis and antitumor and antimetastatic activity of 5-hydroxypyrimidine derivatives. Pharm. Chem. J., **53**(8), 697-700. DOI: 10.1007/s11094-019-02065-1
7. Коваленко Л.П., Коржова К.В., Никитин С.В. (2020) Противоаллергенная и противовоспалительная активность производных 5-оксипиримидина (СНК-411 и СНК-578). Экспериментальная и клиническая

- фармакология, **83**(10), 9-12. [Kovalenko L.P., Korzhova K.V., Nikitin S.V. (2020) Antiallergenic and anti-inflammatory activity of 5-oxypyrimidine. *Experimental and Clinical Pharmacology*, **83**(10), 9-12.] DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-10-9-12
8. Kuznetsova O.S., Tallerova A.V., Nikitin S.V., Kovalenko L.P. (2016) Effects of 5-pyrimidinol derivative SNK-41 on cytokine profile of mice with lewis lung carcinoma. *Bull. Exper. Biol. Med.*, **160**(4), 483-485. DOI: 10.1007/s10517-016-3202-z
9. Taniguchi K., Karina M. (2014) IL-6 and related cytokines as the critical lynchpins between inflammation and cancer. *Semin. Immunol.*, **26**(1), 54-74. DOI: 10.1016/j.smim.2014.01.001
10. Wang H., Joyce J. (2010) Alternative activation of tumor-associated macrophages by IL-4. Priming for protumoral functions. *Cell Cycle*, **9**(24), 4824-4835. DOI: 10.4161/cc.9.24.14322
11. Ikutani M., Yanagibashi T., Ogasawara M., Tsuneyama K., Yamamoto S., Hattori Y., Kouro T., Itakura A., Nagai Y., Takaki S., Takatsu K. (2012) Identification of innate IL-5-producing cells and their role in lung eosinophil regulation and antitumor immunity. *J. Immunol.*, **188**(2), 703-713. DOI: 10.4049/jimmunol.1101270
12. Takeuchi E., Takahashi N., Morizumi S., Tamiya H., Matsuoka H., Kuroda N., Yorita K. (2020) Interleukin-5-producing malignant pleural mesothelioma with eosinophilic pleural effusion. *Thoracic Cancer*, **11**(10), 3043-3046. DOI: 10.1111/1759-7714.13652
13. Shimato S., Maier L.M., Maier R., Bruce J.N., Anderson R.C., Anderson D.E. (2012) Profound tumor-specific Th2 bias in patients with malignant glioma. *BMC Cancer*, **27**(12), 561. DOI: 10.1186/1471-2407-12-561
14. Коваленко Л.П., Коржова К.В., Зайнуллина Л.Ф., Никитин С.В., Иванова Е.А., Журиков Р.В. (2021) Влияние производных 5-оксипиримидина на рост опухоли и содержание интерлейкинов в сыворотке крови самок мышей линии СВА с раком шейки матки (ПШМ-5). *Биомедицинская химия*, **67**(2), 158-161. [Kovalenko L.P., Korzhova K.V., Zainullina L.F., Nikitin S.V., Ivanova E.A., Zhurikov R.V. (2021) Effect of 5-hydroxypyrimidine derivatives on tumor growth and cytokine concentration in blood serum of female CBA mice with cervical cancer (RSHM-5). *Biomeditsinskaya Khimiya*, **67**(2), 158-161.] DOI: 10.18097/PBMC20216702158
15. Deo S.S., Mistry K.J., Kakade A.M., Niphadkar P.V. (2010) Role played by Th2 type cytokines in IgE mediated allergy and asthma. *Lung India*, **27**(2), 66-71. DOI: 10.4103/0970-2113.63609
16. Zhao X., Liu J., Ge S., Chen C., Li S., Wu X., Feng X., Wang Y., Cai D. (2019) Saikosaponin A inhibits breast cancer by regulating Th1/Th2 balance. *Front. Pharmacol.*, **10**, 624. DOI: 10.3389/fphar.2019.00624
17. Lin W., Zhang H.L., Niu Z.Y., Wang Z., Kong Y., Yang X.S., Yuan F. (2020) The disease stage-associated imbalance of Th1/Th2 and Th17/Treg in uterine cervical cancer patients and their recovery with the reduction of tumor burden. *BMC Womens Health*, **20**(1), 126. DOI: 10.1186/s12905-020-00972-0
18. Mateu-Jimenez M., Curull V., Pijuan L., Sánchez-Font A., Rivera-Ramos H., Rodríguez-Fuster A., Aguiló R., Gea J., Barreiro E. (2017) Systemic and tumor Th1 and Th2 inflammatory profile and macrophages in lung cancer: Influence of underlying chronic respiratory disease. *J. Thorac. Oncol.*, **12**(2), 235-248. DOI: 10.1016/j.jtho.2016.09.137
19. Somasundaram R., Connelly T., Choi R., Choi H., Samarkina A., Li L., Gregorio E., Chen Y., Thakur R., Abdel-Mohsen M., Beqiri M., Kiernan M., Perego M., Wang F., Xiao M., Brafford P., Yang X., Xu X., Secreto A., Danet-Desnoyers G., Traum D., Kaestner K., Huang A., Hristova D., Herlyn M. (2021) Tumor-infiltrating mast cells are associated with resistance to anti-PD-1 therapy. *Nat. Commun.*, **12**(1), 346. DOI: 10.1038/s41467-020-20600-7
20. Wang X., Teng F., Kong L., Yu J. (2016) PD-L1 expression in human cancers and its association with clinical outcomes. *OncoTargets Therapy*, **9**, 5023-5039. DOI: 10.2147/OTT.S105862
21. Verma V., Shrimali R., Ahmad S., Dai W., Wang H., Lu S., Nandre R., Gaur P., Lopez J., Sade-Feldman M., Yizhak K., Bjorgaard S., Flaherty K., Wargo J., Boland G., Sullivan R., Getz G., Hammond S., Tan M., Qi J., Wong P., Merghoub T., Wolchok J., Hacohen N., Janik J., Mkrtychyan M., Gupta S., Khleif S. (2019) PD-1 blockade in subprimed CD8 cells induces dysfunctional PD-1+CD38hi cells and anti-PD-1 resistance. *Nat. Immunol.*, **20**(9), 1231-1243. DOI: 10.1038/s41590-019-0441-y
22. Champiat S., Dercle L., Ammari S., Massard C., Hollebecque A., Postel-Vinay S., Chaput N., Eggermont A., Marabelle A., Soria J.C., Féré C. (2017) Hyperprogressive disease is a new pattern of progression in cancer patients treated by anti-PD-1/PD-L1. *Clin. Cancer Res.*, **23**(8), 1920-1928. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1741
23. Saâda-Bouazid E., Defaucheux C., Karabadjakian A., Coloma V.P., Servois V., Paoletti X., Even C., Fayette J., Guigay J., Loirat D., Peyrade F., Alt M., Gal J., le Tourneau C. (2017) Hyperprogression during anti-PD-1/PD-L1 therapy in patients with recurrent and/or metastatic head and neck squamous cell carcinoma. *Annals Oncology*, **28**(7), 1605-1611. DOI: 10.1093/annonc/mdx178
24. Kim S.R., Chun S.H., Kim J.R., Kim S., Seo J.Y., Jung C.K., Gil B., Kim J., Ko Y.H., Woo I.S., Shim B.Y., Hong S., Kang J.H. (2021) The implications of clinical risk factors, CAR index, and compositional changes of immune cells on hyperprogressive disease in non-small cell lung cancer patients receiving immunotherapy. *BMC Cancer*, **21**(1), 19. DOI: 10.1186/s12885-020-07727-y
25. Xiong D., Wang Y., Singavi A.K., Mackinnon A.C., George B., You M. (2018) Immunogenomic landscape contributes to hyperprogressive disease after anti-PD-1 immunotherapy for cancer. *iScience*, **9**, 258-277. DOI: 10.1016/j.isci.2018.10.021
26. Lan T., Chen L., Wei X. (2021) Inflammatory cytokines in cancer: Comprehensive understanding and clinical progress in gene therapy. *Cells*, **10**(1), 100-118. DOI: 10.3390/cells10010100

Поступила в редакцию: 15. 09. 2022.
После доработки: 25. 01. 2023.
Принята к печати: 09. 02. 2023.

**CORRECTION OF SERUM PROONCOGENIC CYTOKINES AND METASTASES
BY 5-HYDROXYPYRIMIDINE DERIVATIVES AND DOXORUBICIN AFTER REMOVAL
OF A PRIMARY TUMOR NODE IN MICE WITH THE LEWIS LUNG EPIDERMOID CARCINOMA**

*L.P. Kovalenko, K.V. Korzhova, S.V. Nikitin, E.A. Ivanova, R.V. Zhurikov**

Zakusov Institute of Pharmacology,
8 Baltijskaja str., Moscow, 125315 Russia; *e-mail: zhurikovrv@gmail.com

The effect of a single injection of doxorubicin, 8-day administration of two 5-hydroxypyrimidine derivatives, SNK-411 (2-Isobutyl-4,6-dimethyl-5-hydroxypyrimidine) and SNK-578 (hydrochloride of 2-isobutyl-4,6-dimethyl-5-hydroxypyrimidine), on metastases, lifespan and serum cytokines has been investigated in C57BL/6 mice after removal of a primary tumor node of Lewis lung carcinoma (LLC). LLC cells (1×10^6) were injected in the footpad of right hind feet of mice in control and experimental groups; after 14 days of tumor development the hind feet with the tumor were amputated at the ankle level. One hour before the amputation mice received a single injection of doxorubicin (4 mg/kg) and 8-day therapy with the 5-hydroxypyrimidine derivatives started. SNK-578 monotherapy was performed at a dose of 10 mg/kg administered intraperitoneally (i.p.). SNK-411 was administered *per os* at a dose of 25 mg/kg. In the case of combined therapy mice also received a single injection of doxorubicin (4 mg/kg; i.p.). The metastasis inhibition index in mice-treated with SNK-411 and SNK-578 were 53.3% as compared with control mice (with removed tumor). The mice-treated with SNK-411, doxorubicin, and the combination SNK-578 + doxorubicin had lifespan increased by 60.2%, 53.9%, and 42.9%, respectively. A single injection of doxorubicin, the course administration of the 5-hydroxypyrimidine derivative alone and in combination with single injection of doxorubicin completely decreased serum levels of the prooncogenic Th2 cytokines IL-4 and IL-6 and significantly decreased the level of the Th2 cytokine IL-5. Administration of doxorubicin, SNK-411 and SNK-578 did not influence serum concentration of Th1 cytokine interferon gamma (IFN- γ). These data confirm our previous findings that administration of the compounds studied decreased concentrations of prooncogenic IL-4 and IL-6 in tumor-bearing mice with LLC and had no effect on concentrations of the Th1 cytokine IFN- γ .

The whole English version is available at <http://pbmc.ibmc.msk.ru>.

Key words: lung cancer model *in vivo*; doxorubicin; pyrimidines; metastasis; interleukins; survival

Funding: The work was performed in the framework of a state task on project number No. 0521-2019-0004.

Received: 15.09.2022; revised: 25.01.2023; accepted: 09.02.2023.